

**IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS FÚNGICOS CAUSANTES
DEL ATIZONAMIENTO EN LLUVIA DE ORO (*Cassia fistula* L.)
EN CORRIENTES, ARGENTINA¹**

**Identification of fungal pathogens causing blighting on Golden-shower
(*Cassia fistula* L.) in Corrientes, Argentina¹**

María G. Cabrera^{2*}, Nélica T. Sosa de Castro², Roberto E. Álvarez² y Ángela Sosa López²

A B S T R A C T

This work was carried out to determine the causal agent of diseases on golden shower (*Cassia fistula* L.) in greenhouses of Corrientes, Argentina. As a result of the disease, severe defoliation and necrotic lesions of leaves and stems were observed. Two *Colletotrichum* species were isolated. The isolation and the study of fungus were performed according to the routine techniques. The inoculation was conducted followings Koch's postulates confirming *C. lindemuthianum* and *C. gloeosporioides* as the agents of disease. This is the first report of the disease in Argentina.

Key words: ornamentals, diseases, mycosis, anthracnose, dieback, *Colletotrichum*.

R E S U M E N

Este trabajo fue llevado a cabo para determinar el agente causal de enfermedades en lluvia de oro (*Cassia fistula* L.) en invernáculos de Corrientes, Argentina. Como resultado de la enfermedad, se observó defoliación severa y lesiones necróticas de hojas y ramas. Se aislaron dos especies de *Colletotrichum*. El aislamiento y el estudio de hongos se realizó de acuerdo a técnicas de rutina. La inoculación se llevó a cabo siguiendo los postulados de Koch y confirmó a *C. lindemuthianum* y a *C. gloeosporioides* como agentes de la enfermedad. Esta es la primera información de la enfermedad en Argentina.

Palabras clave: ornamentales, enfermedades, micosis, antracnosis, necrosis descendente, muerte regresiva, *Colletotrichum*.

¹ Recepción de originales: 25 de julio de 2002.

² Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Facultad de Ciencias Agrarias, Sargento Cabral 2131, C.P. 3400, Corrientes, Argentina.
E-mail: cabrera@agr.unne.edu.ar *Autor para correspondencia.

INTRODUCCIÓN

En el transcurso de los últimos años se ha incrementado el cultivo de algunas especies arbóreas de bajo porte, para ornamentación de plazas y especialmente calles y avenidas de la ciudad de Corrientes, Argentina, entre las que se pueden encontrar ejemplares de lluvia de oro (*Cassia fistula* L.) (Fabaceae). También se la usa para jardines particulares por la belleza de sus hermosos y grandes racimos florales de color amarillo intenso.

La lluvia de oro (Golden shower) es un arbusto de escasa altura y grandes hojas compuestas, originario de la India, usado como medicinal por las propiedades terapéuticas de hojas y vainas (Agricultural Research Service, 1960). La especie se ha establecido en América tropical y subtropical; en Argentina se la cultiva en invernaderos de especies ornamentales.

Desde principios del año 2000 se han observado ejemplares seriamente afectados por grandes manchas foliares. Las lesiones se inician como puntuaciones redondeadas oscuras, que al evolucionar se vuelven elipsoides, rodeadas por un ancho halo clorótico. En el centro de las lesiones se observaron fructificaciones subepidérmicas globosas, de color negro, signos de la presencia del patógeno. Las lesiones se expanden necrosando grandes áreas de los folíolos, confiriendo al follaje un aspecto de atizonado. La enfermedad causa defoliación severa, dejando el tallo desnudo. Las infecciones se extienden a pecíolos y ramas tiernas, causando necrosis descendente de las ramas del año, lo que agrava el cuadro patológico.

En los exámenes preliminares de las muestras se determinó la presencia de hongos del género *Colletotrichum* relacionados con los tejidos enfermos.

En la revisión bibliográfica no se hallaron antecedentes de ninguna patología afectando a *Cassia fistula* L. en Argentina. En la información extranjera se encontró la mención de *Glomerella cingulata* (Ston.) Spauld. & Schrenk., cuyo anamorfo es *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc., sobre una especie de leguminosa

nativa llamada falso café, *Cassia tora* L. (Agricultural Research Services, 1960), la que abunda en esta zona.

Por otro lado, Sutton (1980), describió a *C. lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Br. & Cav. afectando a *Cassia fistula* y otras leguminosas en varios países.

El objetivo del trabajo fue identificar los patógenos causantes del manchado foliar y necrosis de ramas que afectan a los ejemplares de *C. fistula* en Corrientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Hospedante. En reconocimientos periódicos cumplidos a lo largo del año 2000 en viveros, calles y paseos de la ciudad de Corrientes, Argentina, y en el campus de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, en la misma ciudad, se recolectaron muestras de *C. fistula* para su estudio, consistentes en hojas y ramas enfermas.

Sintomatología. A fin de describir y caracterizar los síntomas observados en las muestras de plantas enfermas, se realizaron exámenes macroscópicos y con microscopio estereoscópico (160x). Se prepararon cámaras húmedas con cajas plásticas transparentes y papel humedecido estériles para favorecer la aparición de signos sobre el material enfermo; se las observó a las 24 h aproximadamente. Se realizaron observaciones microscópicas (750 x) de las estructuras que allí se formaron y de cortes histológicos de hojas y ramas con lesiones nuevas, todas montadas en agua destilada estéril.

Identificación. Para determinar la causa de la enfermedad, se realizaron siembras en medio de cultivo de pequeñas fracciones de tejido de hojas y ramas afectadas, previamente desinfectados. Se seleccionaron hojas y ramas tiernas con manchas nuevas, de las que se cortaron pequeños trozos del borde de las lesiones en los tejidos enfermos.

Luego de lavarlas en agua corriente, las piezas cortadas se desinfectaron con etanol al 70%, e hipoclorito de sodio al 10%, durante 5 min,

enjuagándose con agua destilada estéril en tres pasos sucesivos. Luego el material se transfirió a placas Petri con agar papa glucosado (APG) al 1,5%, pH 7. Las cajas sembradas se incubaron en estufa regulada a 27°C durante 7 días.

De las colonias desarrolladas se seleccionaron cuatro, según procedieran de hojas o ramas, realizando aislamientos monospóricos y repicándolos a tubos inclinados, con el mismo medio de cultivo. La incubación se realizó bajo condiciones de laboratorio, con 12 horas luz y 12 de oscuridad.

Pruebas de patogenicidad

Se cumplieron los postulados de Koch (Agrios, 1995) para confirmar al agente aislado como causante de los síntomas observados. Las pruebas experimentales de patogenicidad se hicieron sobre plantas sanas de lluvia de oro, de 30 meses de edad y de 70 cm de altura criadas en macetas, bajo cobertura. Para ello se emplearon dos aislados monospóricos de *Colletotrichum* spp., obtenidos de los aislamientos anteriores y de características culturales diferentes.

El inóculo empleado consistió en discos de APG de 0,5 cm de diámetro, cortados de colonias puras de 10 días de cultivo desarrolladas en condiciones de laboratorio con fotoperíodo 12:12 h (luz:oscuridad).

Para la prueba se emplearon dos plantas por tratamiento con sus respectivos testigos. La inoculación se realizó adosando los discos de APG con el inóculo sobre folíolos de hojas jóvenes, de la parte media de las plantas y sujetándolos con cinta engomada. A 10 folíolos se les provocaron pequeñas heridas con aguja histológica, y a otros 10 no se les hirió; sobre la zona herida se adosaron los discos con inóculo, lo mismo que a los otros sin heridas. De igual manera se procedió con los testigos. Las plantas del experimento se cubrieron con bolsas de polietileno durante 72 h, a fin de mantener una atmósfera saturada de humedad y evitar así la desecación rápida del inóculo debido a las temperaturas elevadas reinantes durante el tiempo de incubación ($30 \pm 2^\circ\text{C}$).

Para realizar la caracterización de los microorganismos patógenos se examinó el material proveniente de los reisolamientos, y se los comparó con los aislamientos originales. Las dos cepas que resultaron patógenas se replicaron en placas Petri, para estudiar su comportamiento cultural.

Para describir la morfología de las estructuras que caracterizan a los organismos en estudio y realizar la morfometría de esporas y estructuras fúngicas, se hicieron preparados microscópicos desde colonias nuevas de los hongos, montando el material en agua destilada estéril. Se utilizaron trabajos descriptivos y claves sistemáticas de hongos para determinar la identidad de los agentes patógenos (von Arx 1957, 1970; Fernández Valiela, 1978, 1979; Sutton, 1980; Hawksworth *et al.*, 1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Sintomatología

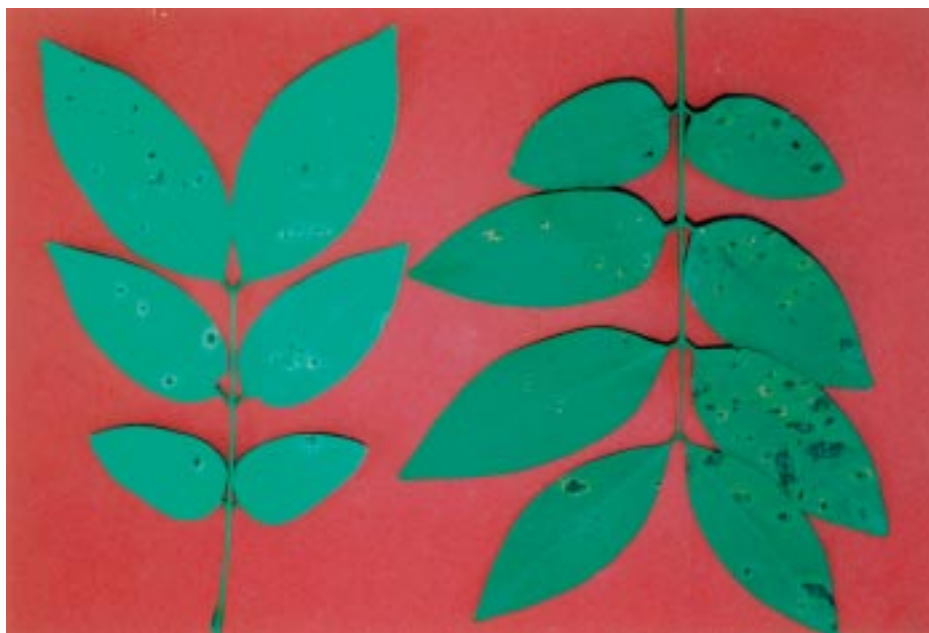
Las manchas observadas en hojas y ramas de lluvia de oro, *C. fistula*, provocan el deterioro rápido de estos órganos y determinan su muerte. Las infecciones se extienden a las ramas jóvenes que se necrosan y oscurecen, desarrollando muerte regresiva. Las plantas jóvenes, criadas en macetas, mueren por efecto de las infecciones.

En el material colectado se observaron síntomas de la enfermedad en un importante porcentaje de hojas de diferentes edades. La enfermedad se caracterizó por lesiones que se manifestaron inicialmente como pequeñas puntuaciones oscuras, casi negras, rodeadas de un delgado halo clorótico y dispersas sobre la lámina foliar (Figura 1).

Los ejemplares jóvenes de lluvia de oro manifestaron síntomas severos, 50-80% del área foliar afectada, y resultaron en la defoliación total de las plantas.

Más adelante, las lesiones, así como también el halo clorótico, aumentan considerablemente de tamaño. En ataques severos esas lesiones se extienden con características de antracnosis, y confluyen cubriendo gran parte de la superficie de los folíolos, otorgando a la planta aspecto atizonado. Sobre manchas secundarias se observó también el mismo tipo de

**Figura 1. Síntomas causados por *Colletotrichum* spp. en follaje de lluvia de oro.
Figure 1. Symptoms caused by *Colletotrichum* spp. on foliage of golden shower.**



signo. Las ramas también son infectadas, presentando lesiones oscuras que se extienden hacia abajo alcanzando el tallo principal.

Se apreció que los tejidos jóvenes son más susceptibles, dado que la sintomatología es más severa en las hojas más nuevas. Sin embargo, en plantas adultas es posible observar pequeñas manchas con escaso halo o sin él en todo el follaje.

Identificación

Los cultivos de los hongos se desarrollaron a los 3-4 días. Se obtuvieron dos aislamientos diferentes del género *Colletotrichum*, uno de micelio casi negro que se denominó A, y otro de color gris amarillento denominado B. El aislado denominado A se desarrolló lentamente al inicio, con micelio aéreo grisáceo, tornándose muy oscuro con el correr de los días; sobre y entre el micelio se desarrollaron cirros cremosos de color anaranjado pálido. El aislado A se obtuvo de las lesiones más pequeñas y redondeadas que se observan en la hoja de la izquierda de la Figura 1.

Como resultado de las inoculaciones artificiales, a partir de los 10 días se observaron lesiones en hojas

con y sin heridas. Esta reacción indica que el hongo inoculado (aislado A) es el agente causante de la enfermedad en estudio en lluvia de oro. De acuerdo a la información de Fernández Valiela (1978), el agente causal determinado, *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Br. & Cav., infecta otras leguminosas, penetrando directamente los tejidos del hospedante. El presente resultado experimental concuerda con dicho autor.

El aislado B en tanto desarrolló colonias más claras, gris amarillento, de crecimiento más rápido, y abundante esporulación del mismo color. Éste provenía de siembras realizadas desde lesiones foliares extensivas, como las observadas en la hoja de la derecha en la Figura 1. En las plantas inoculadas con esta cepa la reacción fue más lenta, y los síntomas se observaron recién a partir de los 15 días después de la inoculación. En este caso los síntomas se acentuaron en las hojas en las que se practicaron heridas al inocularlas experimentalmente, y también cuando las hojas sufrieron quemaduras solares fortuitas. Este hecho indicaría que el aislado B, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc., se ve favorecido por la presencia de lesiones en las hojas, usando las mismas como medio de penetración en la planta.

En concordancia con el resultado experimental, los reaislamientos de ambos aislados produjeron colonias de las mismas características que las inoculadas. En las colonias del aislado A se formaron cuerpos oscuros, irregulares, de aspecto carbonoso, que al evolucionar se identificaron como acérvulos, con numerosas setas negras, largas y rectas, en los que se apreciaban cirros cremosos de color rosa suave. De estos cirros, se observaron conidios hialinos, unicelulares, bigutulados, cilíndricos, oblongos, de extremos redondeados, uno de los cuales es más aguzado, de $12,62 \mu\text{m} \times 4,01 \mu\text{m}$, datos promedio obtenidos de 100 conidios medidos.

Los conidios se originan en el ápice de conidióforos cortos y simples, hialinos y dispuestos como empalizada, que cubren el tejido fértil del acérvulo. Germinan por un extremo en tubos simples formando apresorios globosos, coloreados, o, sin apresorio, se resuelven en micelio. Sutton (1980) describió a *C. lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Br. & Cav. sobre varias especies de *Cassia*, citando a *C. fistula* y otras leguminosas en varios países. En Argentina, Fernández Valiela (1978, 1979) no lo mencionó sobre este hospedante, pero indicó la existencia de cierta especificidad patogénica del agente sobre leguminosas.

Al comparar los datos obtenidos para el patógeno A, con las descripciones dadas por Sutton (1980) para *C. lindemuthianum*, se encontraron coincidencias en cuanto a características culturales de las colonias y semejanzas morfológicas de las estructuras del patógeno. En cambio las dimensiones de conidios descritas por este autor, no resultaron coincidentes con las del patógeno en estudio. Estas diferencias se explicarían si se considera la opinión de von Arx (1970), en cuanto a la manifestación cambiante de *Colletotrichum* spp. por influencia del sustrato (medios de cultivos u hospedantes), condiciones ambientales y la existencia de razas, citadas por Fernández Valiela (1978).

Del análisis del estudio de las características del aislado A y de las informaciones aportadas por la bibliografía disponible, se concluye que el agente causal de las manchas foliares primarias, iniciales,

la patología más importante observada afectando a las plantas de *C. fistula*, es *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Br. & Cav.

El mismo tratamiento se realizó con la información obtenida del aislado B. Éste presenta características morfométricas coincidentes con las publicadas por Fernández Valiela (1978), Sutton (1980) y Hawksworth *et al.* (1995), con medidas de 100 conidios de $9,5-11,5 \mu\text{m} \times 3,5-4,5 \mu\text{m}$ para *C. gloeosporioides* (Penz.) Sacc. Este hongo está ampliamente difundido en la naturaleza sobre numerosos hospedantes y se lo menciona generalmente como colonizador secundario, a veces llamado parásito de heridas o también saprófito, y otras veces es indicado como patógeno primario agresivo (Sutton, 1980; Fernández Valiela, 1978, 1979).

En este trabajo se observó que *C. gloeosporioides* cumple el papel de organismo secundario, que se asocia al hospedante al colonizar los tejidos necrosados por *C. lindemuthianum*, y desarrolla los síntomas de antracnosis observados en las hojas de lluvia de oro. No se observó la presencia de *C. gloeosporioides* en lesiones iniciales. Esta es la primera información de la presencia de los hongos *C. lindemuthianum* y *C. gloeosporioides* causando enfermedad en lluvia de oro en el país.

CONCLUSIONES

En las condiciones ecológicas de Corrientes, Argentina, las plantas de *Cassia fistula* fueron susceptibles a la manifestación de manchas foliares y lesiones necróticas de ramas.

Los agentes causales de la enfermedad fueron determinados como *Colletotrichum lindemuthianum*, y *Colletotrichum gloeosporioides*, este último colonizando las hojas debilitadas por el primer parásito, ocasionando la consecuente antracnosis.

Esta es la primera información de la presencia de tales microorganismos y las enfermedades que ellos ocasionan en lluvia de oro en Corrientes, Argentina.

LITERATURA CITADA

- Agricultural Research Service. 1960. Index of plant diseases in the United States. Agriculture Handbook No. 165. 531p. Washington D.C., USA.
- Agrios, G.N. 1995. Fitopatología. p 35-36. 2ª ed. Uteha, Noriega Editores, México.
- Commonwealth Mycological Institute. 1986. Manual para patólogos vegetales. 438 p. FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Santiago, Chile.
- Fernández Valiela, M.V. 1978. Introducción a la fitopatología. 3ª ed. Colección Científica INTA. Vol. III: Hongos. Buenos Aires, Argentina.
- Fernández Valiela, M.V. 1979. Introducción a la fitopatología. 3ª ed. Colección Científica INTA. Vol. IV: Hongos y micoplasmas. Buenos Aires, Argentina.
- Hawksworth, D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton, and D.N. Pegler. 1995. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi. 8th ed. 616 p. International Mycological Institute, CAB, U.K.
- Sutton, B.C. 1980. The coelomycetes. p. 523-537. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- von Arx, J.A. 1957. Die artung der Gattung Colletotrichum. Phytopath. Z. 29 p. 413-468.
- von Arx, J.A.. 1970. The genera of fungi sporulating pure culture. Cramer, Lehre. p. 315.